

|               |  |
|---------------|--|
| Title         | Accumulation of peripheral myelin protein 22 in onion bulbs and Schwann cells of biopsied nerves from patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A  |
| Author(s)     | 西村, 知也   |
| Citation      |  |
| Issue Date    |  |
| oaire:version |  |
| URL           | <a href="https://hdl.handle.net/11094/40426">https://hdl.handle.net/11094/40426</a>  |
| rights        |  |
| Note          | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。 |

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|               |  |
|---------------|--|
| 氏 名           | 西 村 知 也  |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)  |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 2 8 4 8 号  |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 9 年 3 月 18 日   |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第2項該当   |
| 学 位 論 文 名     | Accumulation of peripheral myelin protein 22 in onion bulbs and Schwann cells of biopsied nerves from patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A<br>(Charcot-Marie-Tooth disease type 1A 型の peripheral myelin protein 22 の発現に関する研究) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 柳 原 武 彦<br>(副査)<br>教 授 青 笹 克 之 教 授 祖 父 江 憲 治   |

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 目 的

HMSN1A 型 (Charcot-Marie-Tooth disease type 1A) は遺伝性の脱髄性末梢神経障害を呈し、多くは常染色体優性の遺伝形成をとる。神経病理組織学的には有髄線維の脱髄と髄鞘再生を主体とし多数の onion bulb の形成を認める。HMSN1A 型では第17番染色体短腕 (17p11.2) に約1.5 megabase の DNA の縦列重複をもつことが大多数の家族例および孤発例で認められており、この重複部位に末梢神経のミエリンの compact portion に局在する糖蛋白である Peripheral Myelin Protein-22 (PMP-22) が含まれていることが近年明らかになった。PMP-22 遺伝子の領域を含む第17番染色体短腕 trisomy でも末梢神経伝導速度の低下がみられること、PMP-22 遺伝子の重複のホモ接合体ではより重篤な症状を呈することなどより、PMP-22 の遺伝子量の増加がその病因であろうと考えられる。HMSN1A 型では PMP-22 遺伝子を3コピー有するが、この遺伝子量の増加が転写、翻訳にどのように反映されているかは不明であり、HMSN1A 型における生検末梢神経の PMP-22 の発現について検討した。

### 方法ならびに成績

#### (1) ノザンプロット解析による HMSN1A 型における PMP-22 の mRNA の発現に関する検討

臨床的に HMSN1 型と診断した患者のリンパ球より DNA を抽出し、PMP-22 遺伝子のコピー数を PMP-22 cDNA および対照プローブとして PGAM (human muscle specific phosphoglycerate mutase) を用い genomic Southern blot により決定した。サザンプロット解析により PMP-22 遺伝子の重複を確認した HMSN1A 患者5例、対照患者(他の脱髄性末梢神経障害)5例の生検および剖検2症例から得た末梢神経より mRNA を抽出し PMP-22, P0,  $\beta$ -actin cDNA をプローブとしてノザンプロット解析を行った。ミエリン蛋白である PMP-22, P0 の mRNA 量をデンストメトリ値の  $\beta$ -actin との相対比 (PMP-22/ $\beta$ -actin, P0/ $\beta$ -actin) で表わし、正常末梢神経での比を1として HMSN1A 群と対照患者群で比較検討した。

#### (2) HMSN1A 型における PMP-22 の免疫組織化学的検討

PMP-22 蛋白の発現を検討するため PMP-22 の非膜貫通領域 (Y117-T-V-R-H-P-E-W-H-L-N-S-D-Y-S-Y132)

の合成オリゴペプチドを家兎に免疫し、PMP-22 のポリクローナル抗体を作製した。HMSN1A 患者 6 例、対照患者 10 例（他の遺伝性末梢神経障害 CMTIb 1 例、CMTII 2 例、CMTIII 1 例、CMTVII 1 例、後天性末梢神経障害 5 例）および正常 2 例の末梢神経組織のパラフィン切片を用いて PMP-22、P0、MBP、S100 の免疫組織化学染色を行った。

### (3) 結果

末梢神経の主要な蛋白である P0 の mRNA の発現は HMSN1A 群と対照患者群で有意差はみられなかったが、PMP-22 の mRNA の発現は HMSN1A 群で有意に増加していた（約 1.7 倍）。また HMSN1A 群と対照患者群ともに PMP-22 の mRNA の発現は、有髄神経密度と正の相関を認め、また有髄神経密度あたりの PMP-22 の mRNA の発現は HMSN1A 群で増加していた。PMP-22、P0、MBP、S100 の免疫組織化学染色では正常および対照患者の末梢神経組織では PMP-22、P0、MBP は髄鞘のみに陽性であり、S100 はシュワン細胞の細胞質に陽性であった。HMSN1A 群では P0、MBP は髄鞘のみに陽性で、S100 はシュワン細胞の細胞質に陽性であり対照患者群および正常例と同様の染色性であったが、PMP-22 は髄鞘のみでなくシュワン細胞の細胞質、onion bulb にも陽性であった。

### 総括

PMP-22 遺伝子の重複をもつ HMSN1A 患者の生検末梢神経組織では PMP-22 の mRNA の発現は増加しており、有髄神経密度と正の相関を認めた。また免疫組織化学的に PMP-22 蛋白の発現は正常とは異なり、髄鞘のみでなくシュワン細胞の細胞質、onion bulb にも陽性であった。PMP-22 の機能に関しては未だ不明な点が多いが、当初 growth arrest-specific(gas-3)gene として同定されており、ミエリンの構造蛋白としての役割以外に細胞増殖に関与すると考えられる。HMSN1A 型の病因として遺伝子の重複による PMP-22 の発現異常がシュワン細胞の分化、増殖に影響を及ぼしていると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

Charcot-Marie-Tooth Disease type 1A 型 (CMT1A) は最も頻度の高い遺伝性末梢神経障害であり、その多くは末梢神経のミエリン蛋白である Peripheral Myelin Protein 22 (PMP-22) の重複が認められる。CMT1A 型では PMP-22 遺伝子の過剰発現が病因と考えられるが、その発現に関しては不明であった。本研究は、PMP-22 遺伝子の重複をもつ CMT1A 患者の生検末梢神経組織では、有髄線維密度あたりの PMP-22 mRNA の発現が増加しており、またこれを反映するものとして免疫組織化学的に PMP-22 蛋白の発現が正常とは異なり、髄鞘のみでなくシュワン細胞の細胞質、onion bulb にも発現していることを明らかにした。CMT1A 型における PMP-22 の病因的役割を解明するための重要な研究であり、学位に値すると考える。